

# 基于生物信息学分析 GLI1 在胃癌中的表达及其临床意义

黄 灿, 杨侃侃, 江 兵, 李启信

(安徽医科大学附属巢湖医院胃肠外科, 安徽 合肥 238000)

**摘要:**目的 通过数据库进行数据挖掘的方法研究胶质瘤相关基因 1 (GLI1) 在胃癌中的表达水平, 分析 GLI1 预后在胃癌预后及肿瘤免疫浸润的相关性。方法 通过检索 TIMER 数据库和 UALCAN 数据库获得 GLI1 在泛癌中的表达。通过 UALCAN 数据库分析 GLI1 在胃癌组织和正常组织中的差异性表达, 以及不同临床特征对 GLI1 的表达影响。检索 GLI1 在 Kaplan-Meier Plotter 数据库的胃癌预后结果; 检索 Timer 数据库获得 GLI1 与胃癌组织免疫浸润水平及肿瘤相关免疫细胞表面标志物的相关性。结果 GLI1 在胃癌组织中的表达高于正常组织, GLI1 高表达与胃癌预后不良呈正相关 (OS:  $HR=2.56, 95\%CI: 2.05\sim 3.19, P<1e-16$ ; FP:  $HR=2.29, 95\%CI: 1.82\sim 2.87, P=3.1e-13$ ; PPS:  $HR=3.02, 95\%CI: 2.37\sim 3.86, P<1e-16$ ); GLI1 表达促进胃癌免疫细胞 (B 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞) 浸润 ( $P<0.01$ ); 胃癌中 GLI1 表达水平与多数免疫细胞标志物正相关 ( $P<0.001$ )。结论 GLI1 在胃癌患者中呈异常高表达, 而高表达的 GLI1 在胃癌发生发展过程中可能起到促癌的作用, 且可能是胃癌靶向治疗的一个潜在分子标志物。

**关键词:** 胃癌; GLI1; 肿瘤免疫浸润; 数据挖掘

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2023.05.002

文章编号: 1006-1959(2023)05-0008-06

## Bioinformatics Analysis of GLI1 Expression in Gastric Cancer and its Clinical Significance

HUANG Can, YANG Kan-kan, JIANG Bing, LI Qi-xin

(Department of Gastrointestinal Surgery, Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Hefei 238000, Anhui, China)

**Abstract: Objective** To study the expression level of glioma-associated gene 1 (GLI1) in gastric cancer by database data mining, and to analyze the correlation between GLI1 prognosis and tumor immune infiltration in gastric cancer. **Methods** The expression of GLI1 in pan-cancer was obtained by searching TIMER database and UALCAN database. The UALCAN database was used to analyze the differential expression of GLI1 in gastric cancer tissues and normal tissues, and the effect of different clinical features on the expression of GLI1. The prognostic results of GLI1 in gastric cancer in Kaplan-Meier Plotter database were retrieved. The correlation between GLI1 and immune infiltration level of gastric cancer tissues and tumor-associated immune cell surface markers was obtained by searching Timer database. **Results** The expression of GLI1 in gastric cancer tissues was higher than that in normal tissues. High expression of GLI1 was positively correlated with poor prognosis of gastric cancer (OS:  $HR=2.56, 95\%CI: 2.05\sim 3.19, P<1e-16$ ; FP:  $HR=2.29, 95\%CI: 1.82\sim 2.87, P=3.1e-13$ ; PPS:  $HR=3.02, 95\%CI: 2.37\sim 3.86, P<1e-16$ ). The expression of GLI1 promoted the infiltration of gastric cancer immune cells (B cells, CD4<sup>+</sup>T cells, CD8<sup>+</sup>T cells, neutrophils, macrophages and dendritic cells) ( $P<0.01$ ). The expression level of GLI1 in gastric cancer was positively correlated with most immune cell markers ( $P<0.001$ ). **Conclusion** GLI1 is abnormally highly expressed in patients with gastric cancer, and high expression of GLI1 may play a role in promoting the development of gastric cancer, and may be a potential molecular marker for targeted therapy of gastric cancer.

**Key words:** Gastric cancer; GLI1; Tumor immune infiltration; Data mining

胃癌 (gastric cancer, GC) 是全球第 5 大常见恶性肿瘤, 也是恶性肿瘤死亡的第 3 大原因<sup>[1]</sup>。胃癌的发病机制十分复杂, 具体机制仍不清楚。全身化疗、手术、免疫治疗和靶向治疗均已证实对胃癌有效<sup>[2]</sup>。尽管近年来较早期胃癌通过外科手术取得了一定的效果, 早期手术后 5 年生存率可达到 60%~80%, 但

进展期胃癌预后较差<sup>[3]</sup>。相关基因及分子在胃癌中的异常表达在胃癌的发生发展中起着重要的作用<sup>[4]</sup>。因此, 筛选胃癌诊断和治疗的新靶向分子有利于对胃癌的早期诊断和精准治疗。GLI1 是 Hedgehog 信号转导途径末端的转录因子, Hedgehog 途径在癌症中异常激活有两种方式: ①配体依赖模式: 肿瘤通过自分泌信号过度激活 Shh-GLI 途径产生高水平 Shh 配体; ②配体非依赖模式: 突变的 PTCH 导致 SMO 结构性激活, 导致 GLI1 信号失控促进细胞的转化和肿瘤的发生<sup>[5]</sup>。既往有很多研究发现 GLI1 与多种癌症的发生发展有着重要关系, 包括结肠癌<sup>[6]</sup>、胶质瘤<sup>[7]</sup>、食道癌、膀胱癌<sup>[8]</sup>、骨肉瘤<sup>[9]</sup>、乳腺癌<sup>[10]</sup>等。但目前

作者简介: 黄灿 (1996.9-), 男, 安徽马鞍山人, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事胃肠癌与腹壁外科相关基础与临床研究

通讯作者: 李启信 (1963.9-), 男, 安徽合肥人, 本科, 主任医师, 主要胃肠癌与腹壁外科相关基础与临床研究

GLI1 在胃癌中的研究尚不明确。本研究运用多种癌症基因数据库分析 GLI1 在胃癌中的表达情况,同时探讨 GLI1 基因表达对胃癌患者预后及免疫影响,旨在为深入研究 GLI1 的靶向治疗提供思路。

### 1 资料与方法

1.1 资料来源 检索 TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>) 检索 GLI1 在泛癌中的表达情况,检索条件为: ①Exploration:Gene Diff Exp;②Gene Expression:select GLI1。利用 UALCAN 数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>) 先检索 GLI1 在泛癌中的表达随后在 STAD 中临床相关性表达的相关信息,检索条件为: ①Gene symbol:GLI1;②pan-cancer view;③Gene Expression;④Select Cancer:Stomach adenocarcinoma; ⑤ GLI1 expression based on:Sample types,individual cancer stages,Tumor Grade,Nodal Metastasis status。进一步利用 Kaplan -Meier Plotter 数据库 (<https://kmplot.com/analysis/>)分析 GLI1 在 STAD 中的预后,设置检索条件为: ①Gene symbol:GLI1; ②Cancer:gastric cancer;③Survival:OS,FP,PPS。进一步检索 TIMER 数据库基因分析 GLI1 的表达与免疫浸润的相关性。筛选条件如下: ①Getting started by Gene:Gene Symbol:GLI1;②CancerTypes:STAD;③Immune infiltrates:selectimmunecells; ④Correlationcancer types : STAD; ⑤Gene Symbol Y:GLI1;Gene Symbol X:se-

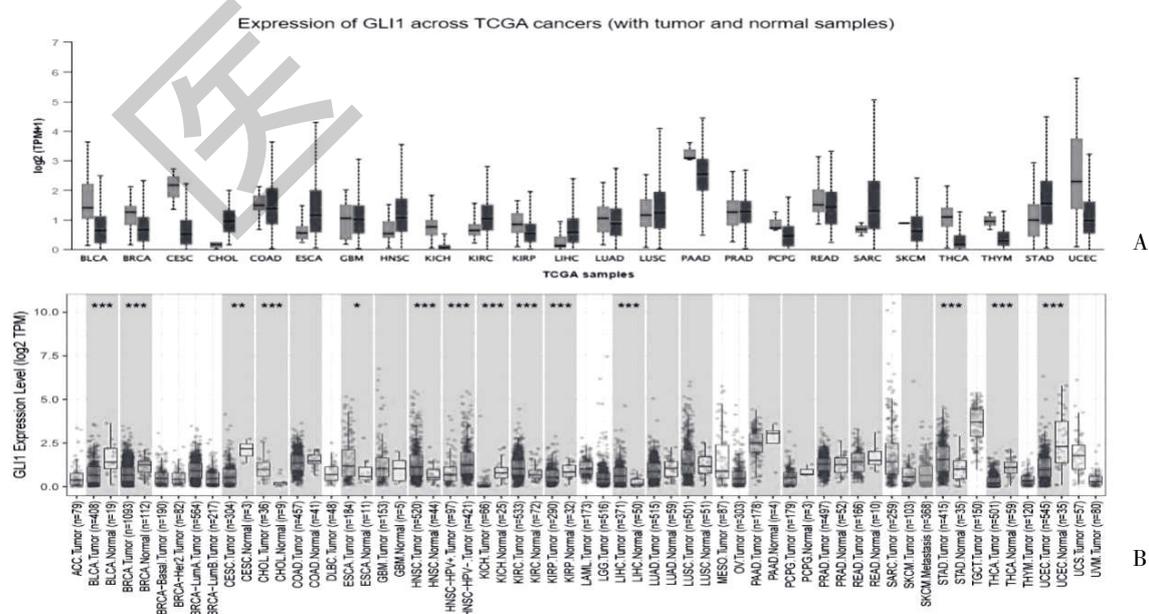
lect immune cells marker。

1.2 统计学处理 UALCAN 数据库中正常组织和肿瘤组织的 GLI1 基因表达差异进行荟萃分析, $P<0.05$  表示差异有统计学意义,生存曲线采用 Kaplan-Meier 方法,两组间生存率比较运用 Log-Rank 检验通过对数秩检验分析,结果为风险比(HR), $P<0.05$  差异有统计学意义,TIMER 数据库中相关性采用 Spearman 相关系数评价。

### 2 结果

2.1 GLI1 在多种肿瘤组织中的表达水平 UALCAN 数据库分析发现 GLI1 在胆管癌、食管癌、头颈鳞状细胞癌、肾透明细胞癌、肝细胞癌、肺鳞癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌的表达均高于正常组织,见图 1A。TIMER 数据库分析 GLI1 在特定肿瘤组织中的差异表达,结果显示胆管癌、食管癌、头颈鳞状细胞癌、肾透明细胞癌、胃癌的表达均高于正常组织见图 1B。

2.2 GLI1 在胃癌中的表达情况 UALCAN 数据库显示,GLI1 胃癌中的表达水平高于正常对照组,且差异有统计学意义( $P=4.208600024036e-09$ );GLI1 在肿瘤分期中 Stage(1,2,3,4)表达均高于正常组,同时 Stage(2,3,4)表达高于 Stage1,且差异有统计学意义。肿瘤分级中 Grade (2,3) 表达高于正常组,Grade3 表达高于 Grade (1,2)。在肿瘤淋巴结转移中, $N_0$ 、 $N_1$ 、 $N_2$ 、 $N_3$  的表达高于正常组,且差异有统计学意义。



注:A:UALCAN 数据库;B:TIMER 数据库;\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$

图 1 GLI1 在不同恶性肿瘤中的表达情况

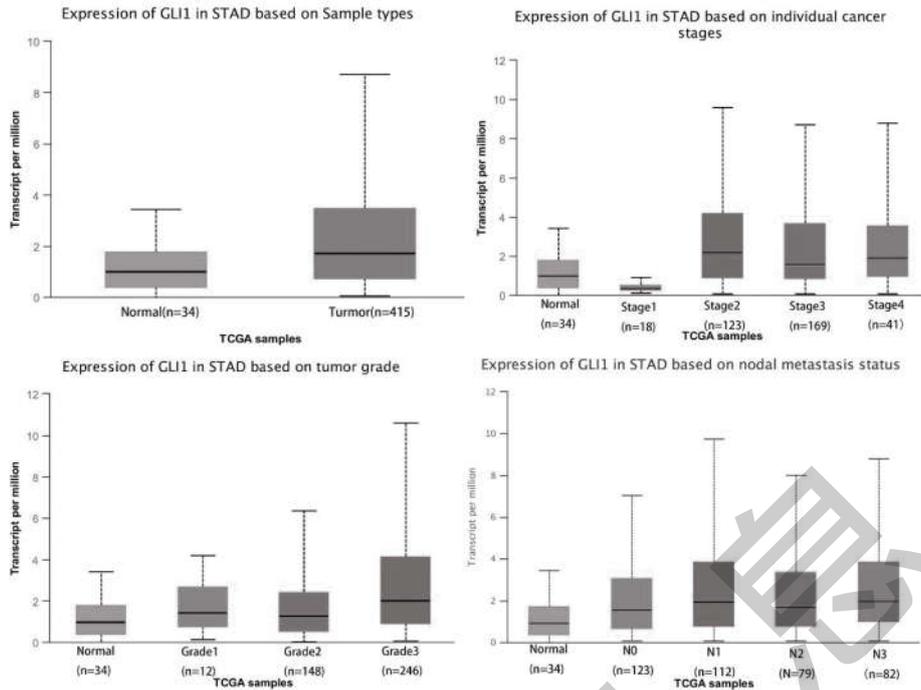


图 2 GLI1 的差异表达胃癌样本类型 (n=449)

2.3 GLI1 的高表达与胃癌患者的预后不良的关系 Kaplan–Meier 数据库分析 GLI1 在胃癌中表达预后价值的结果显示, GLI1 的高表达与胃癌的预后不良有关。高表达的 GLI1 与胃癌的不良预后呈正相关。OS: ( $HR=2.56, 95\% CI: 2.05 \sim 3.19, P < 1e-16$ ) 见图 3A; FP: ( $HR=2.29, 95\% CI: 1.82 \sim 2.87, P=3.1e-13$ ) 见图 3B; PPS: ( $HR=3.02, 95\% CI: 2.37 \sim 3.86, P < 1e-16$ ) 见图 3C。

2.4 GLI1 表达水平与胃癌免疫浸润丰度相关性分析对 TIMER 数据库的分析发现, GLI1 的表达水平与肿瘤丰度呈负相关, 与 B 细胞 ( $Rho=0.112, P=3.09e-02$ )、CD4<sup>+</sup>T 细胞 ( $Rho=0.523, P=4.80e-27$ )、CD8<sup>+</sup>T 细

胞 ( $Rho=0.235, P=5.10e-06$ )、巨噬细胞 ( $Rho=0.434, P=1.74e-18$ )、树突状细胞 ( $Rho=0.571, P=2.29e-33$ )、中性粒细胞 ( $Rho=0.203, P=8.49e-05$ ) 均呈正相关, 见图 4。

2.5 GLI1 表达与肿瘤免疫细胞标志物水平相关性分析 GLI1 表达与肿瘤免疫细胞标志物水平相关性分析胃癌中 GLI1 的表达与多种免疫细胞标志物正相关且具有明显的相关性 ( $P < 0.01$ ), 与 CD8<sup>+</sup>T 细胞、T 细胞、B 细胞、单核细胞、肿瘤相关巨噬细胞、M1 巨噬细胞、M2 巨噬细胞、中性粒细胞、Th1 细胞、Th2 细胞的免疫细胞标志物均呈正相关, 见表 1。

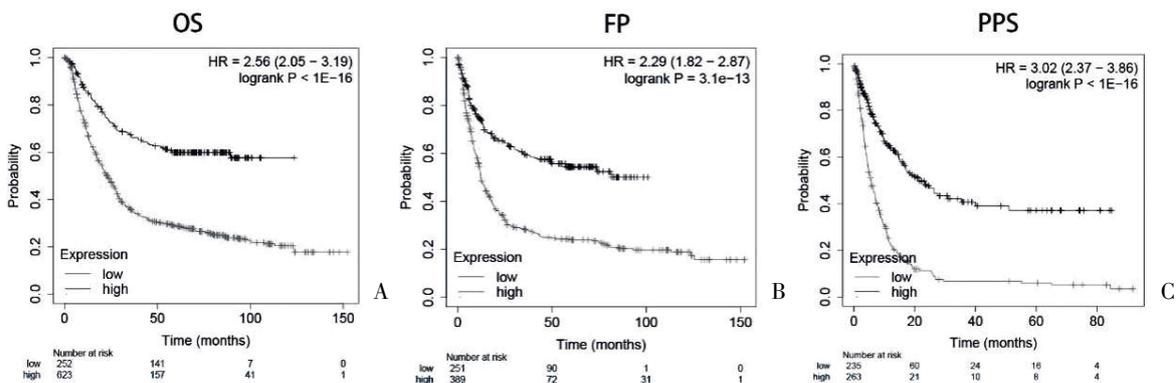


图 3 Kaplan–Meier Plotter 数据库中 GLI1 水平与 HCC 预后的关系

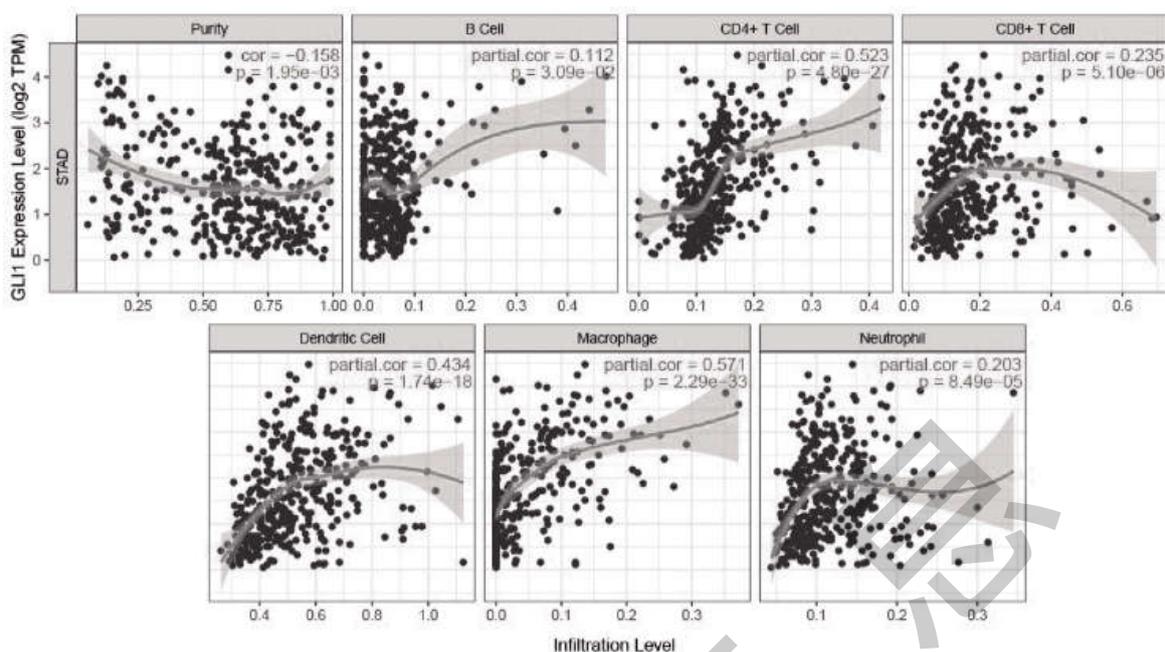


图 4 GLI1 表达与胃癌组织免疫细胞浸润水平的关系

表 1 GLI1 在胃癌中与免疫细胞相关标记物的关系

Description	Gene Marker	STAD	
		rho	P
CD8 <sup>+</sup> T cell	CD8A	0.318	4.56e-11
T cell	CD3D	0.277	1.16e-08
B cell	CD19	0.383	6.59e-16
Monocyte	CD86	0.368	9.14e-15
TAM	CD68	0.282	6.17e-09
M1Macrophage	IRF5	0.366	1.65e-14
M2Macrophage	CD163	0.374	3.32e-15
Neutrophils	CCR7	0.432	0e+00
Th1	STAT4	0.358	7.01e-14
Th2	GATA3	0.269	2.6e-05

### 3 讨论

GLI1 是编码锌指蛋白家族成员之一,最初被鉴定为恶性胶质瘤的扩增基因产物而得名<sup>[11]</sup>。GLI1 是 Hedgehog 信号通路(HH)末端的转录效应因子,在胚胎发育和组织模式/分化过程中受到严格调控。在正常生物体中影响生物的生长发育尤其是在细胞组织修复过程中<sup>[12]</sup>。某些恶性肿瘤中 GLI1 的异常激活

和高表达与促进肿瘤发生发展的许多特征有关。这些肿瘤的发生发展部分是由 GLI1 在调节细胞周期、DNA 复制和 DNA 损伤修复过程中的作用驱动的<sup>[13]</sup>。同时 GLI1 的异常表达在某些非恶性肿瘤疾病的发生发展中同样起到重要作用,如在骨髓纤维化<sup>[14]</sup>、肺动脉高压<sup>[15]</sup>等,并且这些表达往往伴随 HH 信号通路的激活。

研究发现 GLI1 在多种实体肿瘤中过度表达且与预后不良相关,包括胃癌。如 Yao Y 等<sup>[6]</sup>通过蛋白质印记和免疫组化研究发现胃癌组织 GLI1 的表达高于正常组织,还进一步评估 GLI1 的表达与临床病理因素发现 GLI1 表达与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、静脉浸润和 TNM 分期相关,随后细胞水平实验再次证实了 GLI1 的高表达促进了肿瘤组织的增值和迁徙,同时利用动物实验验证 GLI1 的靶向抑制剂提高了对 CIS 的敏感性。Qi W 等<sup>[7]</sup>研究发现 GLI1 的表达与胃癌的分期分级及远处转移具有相关性,但与肿瘤大小及淋巴结转移有关。且运用癌症干性相关的蛋白的共定位表明 GLI1 可能是胃癌的干性相关蛋白。

本研究为了证实 GLI1 在胃癌中的表达差异和免疫浸润的相关性,利用 TIMER 数据库和 UALCAN 数据库对 GLI1 在多种癌症中的表达进行分析,发现 GLI1 在多种癌症中呈现出高表达状态,且在 TIMER 和 UALCAN 两个数据库中胃癌中的 GLI1 均表达高于正常组织。随后进一步运用 UALCAN 数据库进一步分析了 GLI1 在胃癌和正常组织的差异表达,具有明显相关性,GLI1 在胃癌中高表达于正常组织,且在肿瘤分期中 Stage2、3、4 期的胃癌组织表达高于正常组织和 Stage1 期胃癌组织。在肿瘤分级中部分高分期的肿瘤组织中 GLI1 的表达高于低分期肿瘤组织的 GLI1 的表达,而在淋巴结分期中肿瘤组织 GLI1 表达均高于正常组织,但胃癌淋巴结分期中组间的表达无明显的相关性。利用 Kaplan-Meier 数据库中的数据进行分析发现 GLI1 的高表达会影响患者的生存率并导致预后不良,降低患者 OS、FP 及 PPS。由此可以猜测 GLI1 在胃癌中起到促进胃癌的发生发展。

肿瘤微环境主要有肿瘤细胞中的不同免疫细胞组成,肿瘤微环境中的免疫细胞与肿瘤的发生发展有关<sup>[8]</sup>,且其中的复杂机制可能为肿瘤的免疫治疗提供策略<sup>[9]</sup>。TIMER 数据库是全面研究肿瘤免疫相关研究的综合性数据库<sup>[20]</sup>。因此本研究运用 TIMER 数据库进一步分析了 GLI1 的表达与胃癌组织中的免疫细胞的相关性。研究表明,GLI1 的表达与肿瘤丰度呈负相关,与 B 细胞的浸润无相关性,但与 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>细胞、树突状细胞、巨噬细胞、中性

粒细胞等免疫细胞浸润呈正相关。此外,本研究运用 TIMER 数据库对 GLI1 的表达与肿瘤细胞免疫标志物水平进行相关性分析,发现 GLI1 的表达与多种肿瘤免疫细胞标志物具有明显的相关性,由此验证了 GLI1 通过影响免疫细胞来影响胃癌的发生发展。以上结果表明,GLI1 在胃癌中呈现高表达状态,且预示胃癌患者的预后不良,并且在胃癌组织中与免疫浸润有关,免疫浸润与单抗。说明 GLI1 在胃癌发生发展过程中可能起到促癌的作用,为 GLI1 作为胃癌预防和诊断的重要肿瘤学标志物,并且作为胃癌的一个潜在的治疗靶点提供理论依据。此外,本研究结果仅从生物信息学角度进行研究分析,且研究结果尚未进行免疫组化、细胞功能试验、动物实验等相关实验进一步验证。需要进一步的实验和临床数据研究。

综上所述,通过多种数据库进行生物信息学分析发现,GLI1 在胃癌组织中呈高表达,且表达水平与患者生存预后有关。GLI1 在胃癌的发生发展机制表明 GLI1 可能成为以后胃癌的分子诊断和预后标志及免疫治疗靶点。

#### 参考文献:

- [1]Smyth EC,Nilsson M,Grabsch HI.Gastric cancer [J].Lancet,2020,396(10251):635-648.
- [2]Joshi SS,Badgwell BD.Current treatment and recent progress in gastric cancer[J].CA Cancer J Clin,2021,71(3):264-279.
- [3]Sexton RE,Al Hallak MN,Diab M.Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies [J].Cancer Metastasis Rev,2020,39(4):1179-1203.
- [4]Alessandrini L,Manchi M,De Re V,et al.Proposed Molecular and miRNA Classification of Gastric Cancer [J].Int J Mol Sci,2018,19(6):1683.
- [5]Avery JT,Zhang R,Boohaker RJ.GLI1: A Therapeutic Target for Cancer[J].Front Oncol,2021,11:673154.
- [6]Yoshikawa K,Shimada M,Miyamoto H.Sonic hedgehog relates to colorectal carcinogenesis [J].J Gastroenterol. 2009,44(11):1113-1117.
- [7]Zhou A,Lin K,Zhang S,et al.Gli1-induced deubiquitinase USP48 aids glioblastoma tumorigenesis by stabilizing Gli1 [J].EMBO Rep,2017,18(8):1318-1330.
- [8]Katoh Y,Katoh M.Hedgehog target genes: mechanisms of carcinogenesis induced by aberrant hedgehog signaling activation[J].Curr Mol Med,2009,9(7):873-886.

(下转第 21 页)

(上接第 12 页)

- [9]Chen D,Kang X,Li Z,et al.Hedgehog/GLI1 signaling pathway regulates the resistance to cisplatin in human osteosarcoma [J].*J Cancer*,2021,12(22):6676–6684.
- [10]Rokkam P,Gugalavath S,Giff Kumar DK.Prognostic Role of Hedgehog –GLI1 Signaling Pathway in Aggressive and Metastatic Breast Cancers [J].*Curr Drug Metab*,2020,21 (1):33–43.
- [11]Kinzler KW,Bigner SH,Bigner DD.Identification of an amplified, highly expressed gene in a human glioma [J].*Science*, 1987,236(4797):70–73.
- [12]Wu J,Di D,Zhao C.Role of Glioma-associated GLI1 Oncogene in Carcinogenesis and Cancer-targeted Therapy [J].*Curr Cancer Drug Targets*,2018,18(6):558–566.
- [13]Avery JT,Zhang R,Boohaker RJ.GLI1:A Therapeutic Target for Cancer[J].*Front Oncol*,2021,11:673154.
- [14]Schneider RK,Mullally A,Dugourd A.Gli1 + Mesenchymal Stromal Cells Are a Key Driver of Bone Marrow Fibrosis and an Important Cellular Therapeutic Target [J].*Cell Stem Cell*, 2017,20(6):785–800.e8.
- [15]He S,Ma C,Zhang L,et al.GLI1-mediated pulmonary artery smooth muscle cell pyroptosis contributes to hypoxia-induced pulmonary hypertension[J].*Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020,318(3):L472–L482.
- [16]Yao Y,Zhou D,Shi D.GLI1 overexpression promotes gastric cancer cell proliferation and migration and induces drug resistance by combining with the AKT–mTOR pathway[J].*Biomed Pharmacother*,2019,111:993–1004.
- [17]Qi W,Yang Z,Feng Y.Gli1 regulates stemness characteristics in gastric adenocarcinoma[J].*Diagn Pathol*,2020,15(1):60.
- [18]Yuan K,Ye J,Liu Z.Complement C3 overexpression activates JAK2/STAT3 pathway and correlates with gastric cancer progression[J].*J Exp Clin Cancer Res*,2020,39(1):9.
- [19]Mao X,Xu J,Wang W.Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor microenvironment: new findings and future perspectives [J].*Mol Cancer*,2021,20(1): 131.
- [20]Li T,Fan J,Wang B.TIMER:A Web Server for Comprehensive Analysis of Tumor-Infiltrating Immune Cells[J].*Cancer Res*,2017,77(21):e108–e110.

收稿日期:2022-05-25;修回日期:2022-06-13

编辑/肖婷婷